Dott. MANLIO SINDONI
Aiuto
Istituto di Anatomia Patologica della R. Università di Messina
direttore incaricato: Prof. Filippo Battaglia

Le fibre elastiche nei risultati del metodo di Feulgen "Colorazione nucleale,,

Questa nota apparve nel N. 470 di PATHOLOGICA del 15 Dicembre 1930

GENOVA
Società Anonima E. OLIVERI & C.
Tipo-Litografica Ligure
1930

LE FIBRE ELASTICHE NEI RISULTATI DEL METODO DI FEULGEN "COLORAZIONE NUCLEALE„

Dott. MANLIO SINDONI - Aiuto

Istituto di Anatomia Patologica della R. Università di Messina
Direttore incaricato: Prof. Filippo Battaglia

Feulgen e *Rossenbeck* (1) portarono nel campo istologico con opportune modificazioni la nota reazione di *Schiff* correntemente usata in chimica pel riconoscimento degli aggruppamenti aldeidici. Essi hanno visto che in seguito ad idrolisi si ha nel nucleo cellulare quella stessa colorazione viola che si ottiene per mezzo dell' acido fucsinosolforoso nella reazione di *Schiff*. Il fatto sarebbe dovuto alla presenza di gruppi aldeidici dell' acido timonucleinico risultante dall' idrolisi della nucleina. Successivamente *Feulgen* e *Voit* (2) notarono che oltre al nucleo si ha nei tessuti colorazione anche delle fibre elastiche e che ciò è dovuto ad altra sostanza (1), di natura grassosa, avente un gruppo aldeidico e che perciò dà una intensa reazione con acido fucsinosolforoso. Chiamarono tale sostanza « plasmal ». Essa si riscontra in tutti gli animali, dai protisti all' uomo, (*Imhäuser*). (3).

Nei tessuti freschi degli animali il gruppo aldeidico non è libero, ma unito ad un componente sconosciuto: un tale composto chiamarono « plasmalogeno ». Un Ph diverso da quello del siero di sangue, la temperatura e sopratutto il sublimato determinano la formazione del plasmal dal plasmalogeno.

Nell' organismo penetra cogli alimenti notevole quantità di plasmogeno (*Feulgen, Imhäuser* e *Westhues*) (4); il plasmal invece o non viene assorbito come tale o viene immediatamente modificato, in maniera tale che non dà più la sua reazione. L' organismo vivente non consente la presenza in esso di plasmal, cosicchè anche iniettando questa sostanza subito dopo non è più possibile metterla in evidenza nel sangue, mentre iniettando plasmalogeno esso si riscontra nel sangue per oltre un' ora. Esiste perciò una plasmalogenemia sia naturale che sperimentale, ma non una plasmalemia.

I tessuti sono quelli che fissano il plasmalogeno, in quanto il sangue non è in grado di modificarlo, come non è in grado di agire sul plasmal.

Pertanto nel campo istologico i risultati di queste ricerche si è visto che nel protoplasma delle cellule dei tessuti animali il plasmalogeno è presente (non così diffusamente come vogliono Feulgen e collaboratori, secondo *Verne*) e così anche nelle fibre elastiche.

Fissando un organo in sublimato si ha la f rmazione del plasmal, che dà coll' acido fucsinsolforoso colorazione in violetto.

Per quel che riguarda le fibre elastiche risulta dalle ricerche note, già dalle prime di *Feulgen* e *Voit*, che esse danno una netta reazione nei vasi sanguigni, mentre le altre, per es. quelle del polmone, o non ne dànno o ne dàanno una debole. E' poi notevole il fatto che mentre il plasmal, alcoolsolubile, viene allontanato dal protoplasma cellulare col trattamento di essi con alcool, non viene allontanato invece dalle fibre elastiche, cosicchè è possibile avere la colorazione di queste oltre che col metodo del plasmal anche con quello della colorazione nucleale su fettine di pezzi disidradati con alcool ed inclusi in paraffina.

Se ne deduce che il plasmal è fortemente legato alle fibre elastiche dei vasi sanguigni extraparenchimali e in parte anche parenchimali.

Ho fatto ricerche col metodo di *Feulgen* (1) per vedere se, oltre i fatti notati, dagli altri AA. per quanto riguarda le fibre elastiche, il metodo potesse essere utilizzato per una migliore conoscenza di quelle fibre in condizioni normali e patologiche.

Prima di esporre i risultati debbo notare che invece di adoperare il metodo del « plasmal » (sezioni al congelatore di materiale non fissato, passaggio per tre minuti in soluzione all' 1 per cento di sublimato, trattamento con acido fucsinsolforoso) che dà la colorazione del plasmal nei varii elementi cellulari, mi son servito dell' originale

---

(1) Rimando ai lavori dei citati AA. e a quelli di *Tannhauser u. Blanco* (Hoppe Seylers Zeitschr. fur physiol. Chemie, Bd. 148 e 166), di *Verne* (Arch. de Physiol. et de Phisico-Chimie Biol., Vol. 5, 1929), di *Voss* (Anat. Anz. 1929) per l' argomento dal punto di vista della natura chimica della sostanza in parola.

(1) La tecnica è esposta dettagliatamente oltre che nei lavori citati, anche in *Romeis - Taschenbuch* der mikroscopischen *Technik - Oldenbourg*, München, 1928.

metodo della colorazione nucleale su pezzi fissati in sublimato acetico ed inclusi, onde avere sottili fettine e la sola colorazione elettiva del « plasmal » nelle fibre elastiche.

Ho usato come materiale varii visceri e arterie isolate di uomo, di topo bianco, colombo, l'aorta e la femorale di un feto umano di 25 cm. e l'aorta di un embrione di pollo di 20 giorni. Come colorazione di controllo mi son servito del *Weigert* per le fibre elastiche.

I risultati in massima parte corrispondono a quelli dei ricercatori che mi hanno preceduto: esiste cioè uno speciale comportamento delle fibre elastiche dei vasi sanguigni extra-parenchimali, nei quali col *Feulgen* si hanno risultati vicini a quelli ottenuti col *Weigert,* non così per le fibre elastiche dei vasi intraparenchimali in molti dei quali, specie dei più piccoli, le fibre elastiche non si colorano col *Feulgen.* Così anche le fibre elastiche di alcuni organi, quali quelle polmonari, quelle della capsula e trabecolatura splenica, dove solo a forte ingrandimento è possibile notare una debole colorazione col *Feulgen* e solo delle fibre più grosse.

Dei risultati credo di mettere in rilievo i seguenti, sia perchè, a quanto mi risulta, non sono stati rilevati da altri AA., sia pel significato che possono avere:

1. - Nell'aorta del feto umano e dell'embrione di pollo le colorazioni di *Feulgen* e *Weigert* sono corrispondenti, non così per l'arteria femorale del feto umano, nella quale mentre la elastica interna è ben colorata col *Feulgen,* debolissimamente colorate sono le altre fibre elastiche;

2. - Arterie umane a tipo muscolare di individui dei primi mesi di vita dànno immagini corrispondenti coi due metodi, invece le stesse arterie di adulti dànno immagini diverse e ciò in riguardo alle fibre elastiche delle membrane intimali (strato iperplastico). Queste si colorano debolmente col *Feulgen* e a forte ingrandimento si nota una colorazione non uniforme, discontinua. Là ove le membrane intimali sono più d'una, la colorazione suddetta viene assunta dalla più esterna rispetto al lume, meno evidentemente dall'altra o dalle altre, le quali possono anche apparire completamente scolorate (vedi microfot.).

3. - In queste arterie, se si eseguisce il metodo escludendo il passaggio in alcool dei pezzi (pezzi fissati in sublimato, ma fettine al congelatore), allora i risultati dei metodi di *Weigert* e di *Feulgen* si corrispondono. Colla stessa tecnica invece si hanno gli stessi scarsissimi risultati che dà il *Feulgen* per le fibre elastiche polmonari, della milza, del fegato.

4. - Le fibre elastiche della neoformazione a tipo rigenerativo in aorte ateromasiche e in vene sclerotiche (vedi microf.) non si colorano col Feulgen. Lo stesso fatto ho notato per le fibre elastiche di un focolaio di sclerosi del miocardio.

5. - Una più intensa tinta violacea col Feulgen si ha nelle fibre elastiche dell'intima e media dell'aorta e dell'arteria a tipo elastico e nella membrana elastica interna delle arterie a tipo muscolare.

Dall'insieme dei dati si rileva che le fibre elastiche danno col metodo di Feulgen risultati fra loro differentissimi. Per quuelle vasali (arterie a tipo muscolare) sono state notate differenze di colorazione fra elastica interna e membrane intimali sopratutto col Mallory (Wolff) e analoghe differenze si appalesano col Feulgen.

Per il diverso comportamento col metodo di Feulgen, Woss pensa ad una differente costituzione chimica delle fibre elastiche dei vari organi, Verne invece pensa che la loro costituzione sia uguale, ma che abbiano un diverso potere di assorbimento della sostanza che dà la reazione. Tenendo presente che non solo col metodo di Feulgen e col metodo di Mallory, ma anche con altri: Van Gieson, Ewald per la membrana di Schwalle e perfino col metodo di Weigert è possibile stabilire differenze (specie e, per alcuni metodi, solo per le membrane elastiche vasali (Battaglia), si vien portati ad ammettere che effettivamente debbano esistere differenze fisico-chimiche nella costituzione delle varie fibre elastiche; per le membrane dell'intima si può seguire un ciclo, nel feto e nell'adulto, per cui si può parlare di vario stadio di maturità (Battaglia), e da ciò i diversi risultati col Feulgen.

D'altro canto, eseguendo il metodo senza il passaggio in alccol, si nota che la reazione è uguale per tutte le membrane vasali, mentre ciò non si verifica, per es. per le fibre elastiche polmonari, che danno sempre esito negativo, perciò mi pare si possa ammettere con Verne che si tratti di una sostanza assorbita dalle fibre elastiche e che l'assorbimento e la facilità di cederla siano varii e ciò, come aventi dicevo, per la differente costituzione fisico-chimica.

Ancora un dato ho rilevato che potrebbe essere interessante come credo, dal punto di vista istofisiologico: le fibre elastiche che più intensamente si colorano col Feulgen sono quelle dell'intima e media dell'aorta e delle arterie a tipo elastico e la elastica interna delle arterie a tipo muscolare (le stesse nel feto umano di 25 cm. hanno dato netta reazione): ciò che fa pensare ad un nesso tra affinità pel plasmogeno e intensa attività funzionale.

Infine le fibre elastiche neoformate in condizioni patologiche nel materiale da me esaminato si son comportate negativamente col Feulgen.

BIBLIOGRAFIA

(1) FEULGEN u. ROSSENBECK: Hoppe - Seylers Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 135 (1924).
(2) FEULGEN u. VOIT: Pflügers Arch. Bd. 206.
(3) IMHÄUSER: Biochem. Zeitschr. Bd. 186.
(4) FEULGEN, IMHÄUSER u. WESTHUES: Biochem. Zeitschr. Bd. 193.
(5) VERNE: Bull. de l' Assoc. des Anatom. 1928 e Annales de Physico - Chimie Biolog., T. 5, 1929.
(6) WOLLF: Virch. Arch. Bd. 270.
(7) VOSS: Zeischr. f. mikroscopisch. Anat. Forschung Bd. 10.
(8) BATTAGLIA: Arch. ital. d' anat. e istol. pat. Fasc. II, 1930.

SPIEGAZIONE DELLE FIGURE

Microf. I. - Femorale di uomo di a. 70. Color. col Weigert per le fibre elastiche.

Microf. II. - La stessa arteria: color. col Feulgen (pezzo incluso in paraffina). L' elastica interna ben colorata, delle altre membrane e fibre elastiche dell' intima solo la membrana più esterna è debolissimamente colorata.

Microf. III. - Vena safena interna sclerotica (autopsia n. 223, a. 1929-30). Color. col Weigert: numerose fibrille elastiiche nell' intima ispessita.

Microf. IV. - La stessa vena: col Feulgen si colora la sola elastica interna.

RIASSUNTO

L' A. utilizza il metodo di Feulgen (colorazione nucleale) per lo studio delle fibre elastiche: conferma i reperti di altri AA. e nota dei dati di differente comportamento delle fibre elastiche delle arterie (relativi al tipo di arteria, strato iperplastico, ispessimenti intimali a tipo rigenerativo).

M. Sindoni — *Le fibre elastiche nei risultati del metodo di Feulgen "colorazione nucleale"*



Fig. 1

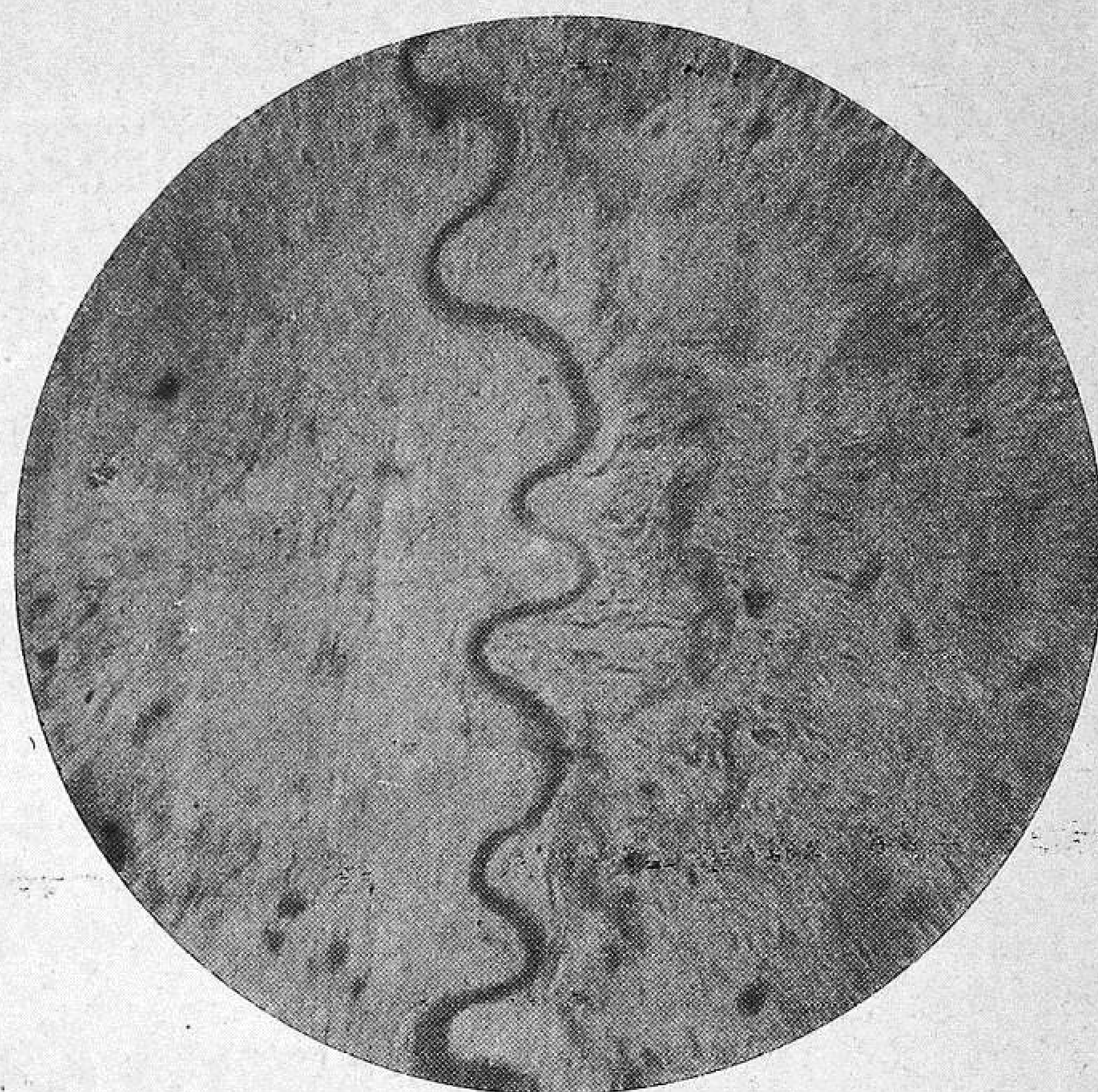


Fig. 2

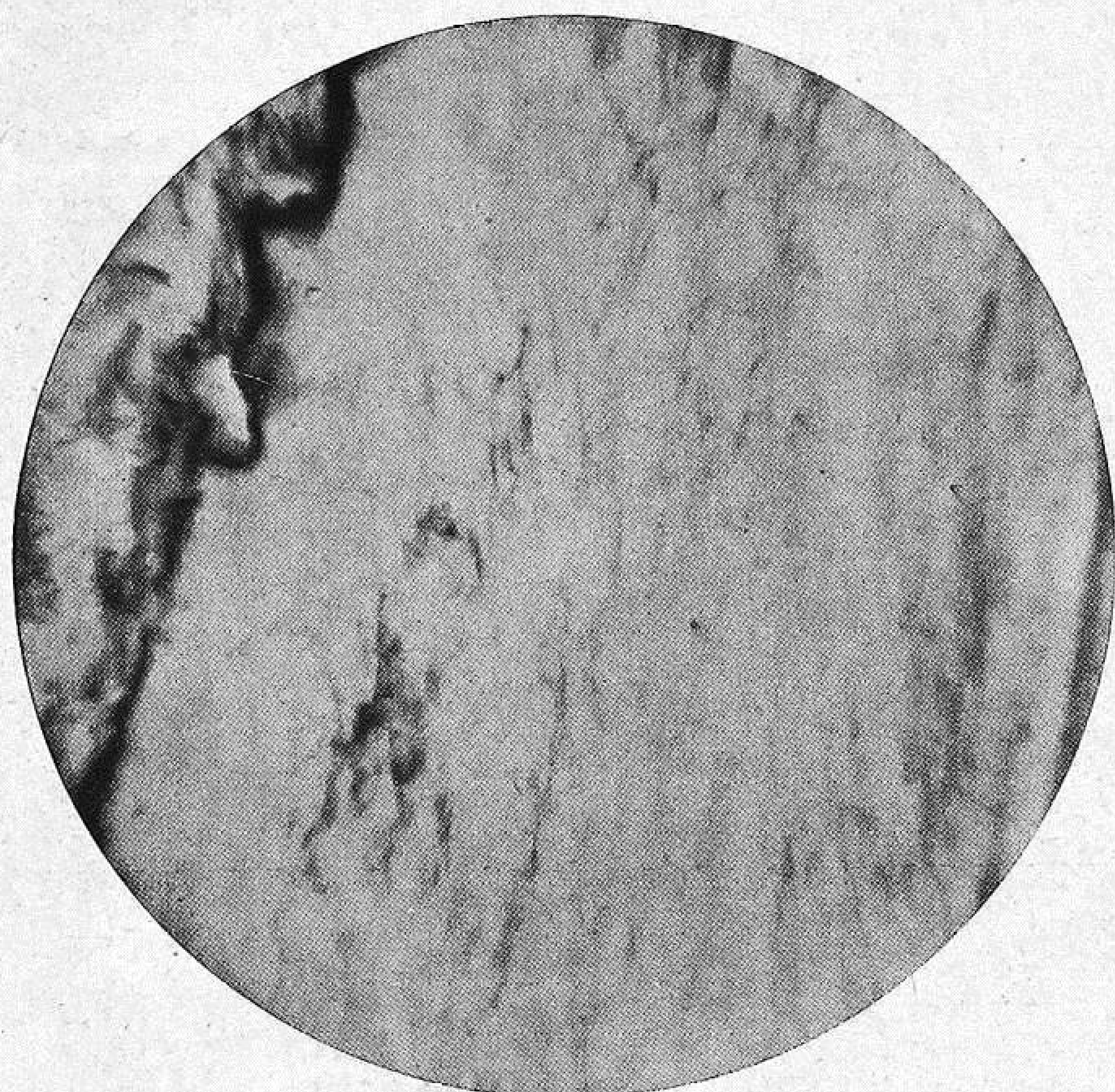


Fig. 3

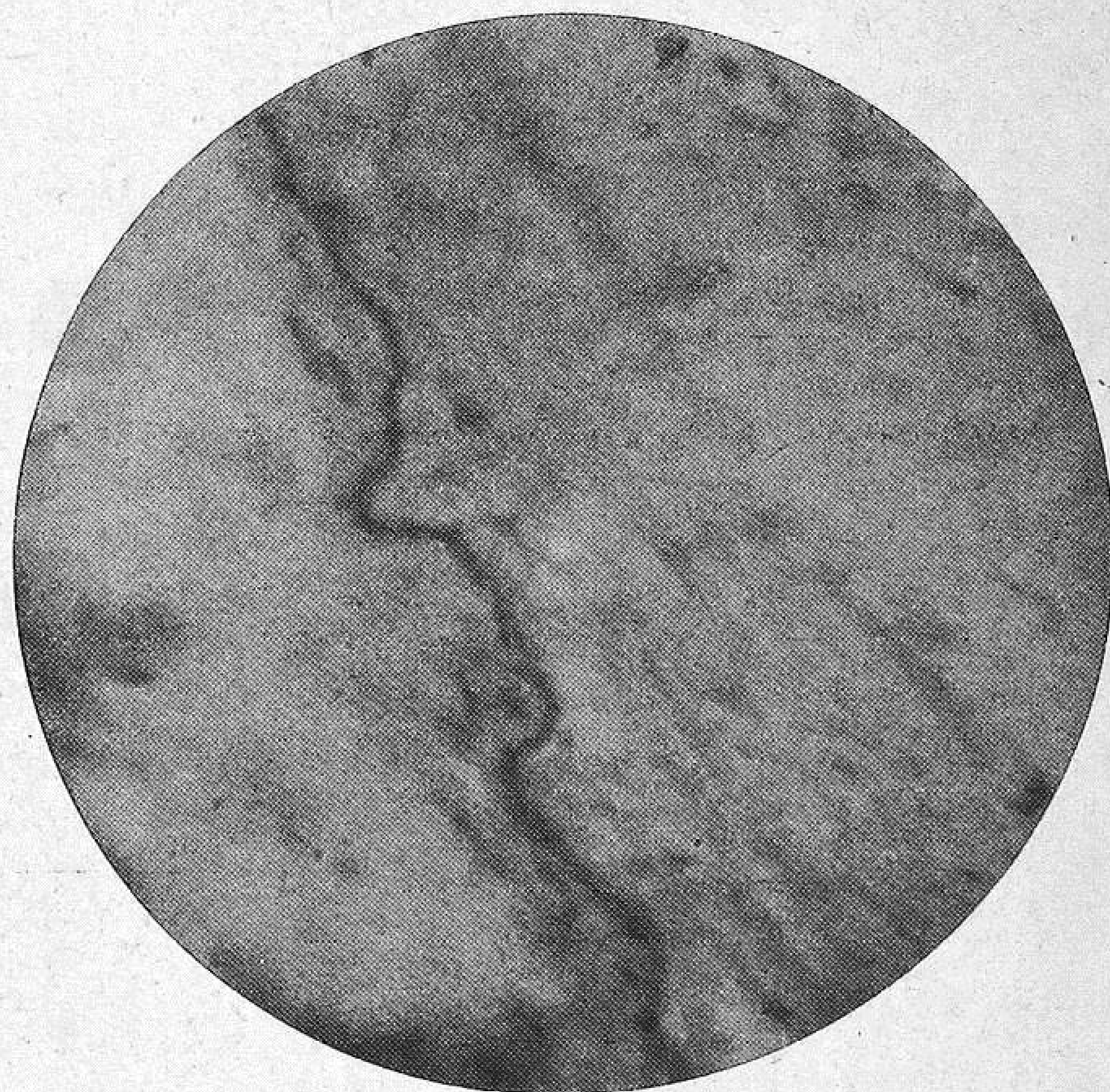


Fig. 4

PATHOLOGICA

RIVISTA MENSILE

Fondatore MARIO SEGALE

Direttore A. CESARIS DEMEL

Conto corrente con la Posta

N. 470 — 15 Dicembre 1930 - IX — Anno XXII

LAVORI ORIGINALI

Con questo fascicolo si chiude la XXII annata di

PATHOLOGICA

Prossimamente verrà stampato un supplemento-indice N. 470 bis

....

Per necessità amministrative si invitano gli abbonati a rinnovare SUBITO il loro abbonamento.

RIASSUNTI DI RECENTI PUBBLICAZIONI

Hanno collaborato in questa rubrica:

V. Cantù — G. Cardon — G. Giannini — A. Massazza — A. Passaggi — E. Puccinelli — G. Solimano

Abbonamento annuo: Italia L. 50 - Europa: Shillings 28, chèque su London - Oltremare: $ 6, chèque su New York - Direzione, Redazione ed Amministrazione: Via Alessandro Volta, N. 6, Genova - Telefono 53902 - Casella Postale 884 - Indirizzo del Direttore: Istituto di Anatomia Patologica, Pisa - Per la pubblicità rivolgersi: R. Lavagetto - Genova - Palazzo Nuova Borsa, 44 - Telefono 52 932 — **Printed in Italy**